



FICHE TECHNIQUE EXPÉRIMENTALE

LA SPECTROPHOTOMÉTRIE

D.Malka – MPSI 2018-2019 – Lycée Jeanne d'Albret

1 Spectrophotométrie d'absorption dans le visible

La spectrophotométrie d'absorption est basée sur les propriétés suivantes :

- les substances colorées absorbent la lumière visible à des longueurs d'onde caractéristiques ;
- la quantité de lumière absorbée par une solution dépend de sa concentration.

La couleur de la solution est en rapport avec la couleur de la lumière absorbée. Sur l'étoile des couleurs complémentaires (fig.1) la couleur de la solution et la couleur absorbée par la solution sont diamétralement opposées. Ainsi une solution orangée absorbe dans le bleu par exemple.

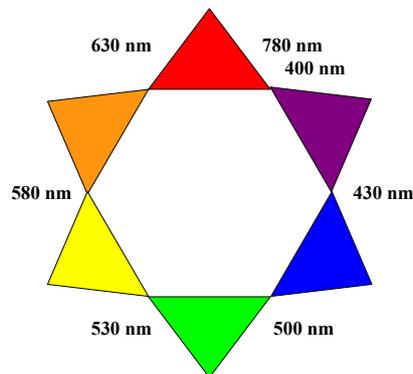


FIGURE 1 – Etoile des couleurs complémentaires

2 Fonctionnement

Soit un faisceau de lumière **monochromatique** qui traverse une cuve d'épaisseur l (cm) contenant une solution de concentration c ($\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$). Si l'intensité du faisceau incident est I_0 , l'absorption par la solution conduit à une intensité du faisceau émergent I telle que $I < I_0$ (fig.2).

3 Définitions

Transmittance T : rapport de l'intensité I du faisceau émergent sur celle du faisceau incident I_0 .

$$T = \frac{I}{I_0}$$

Absorbance A : logarithme de l'inverse de T.

$$A = \log\left(\frac{1}{T}\right)$$

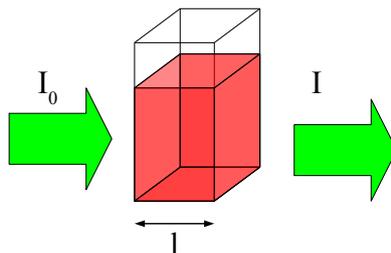


FIGURE 2 – Absorption de la lumière par une solution.

Spectre d’absorption : la courbe $A = f(\lambda)$ relative à une espèce chimique (fig.3).

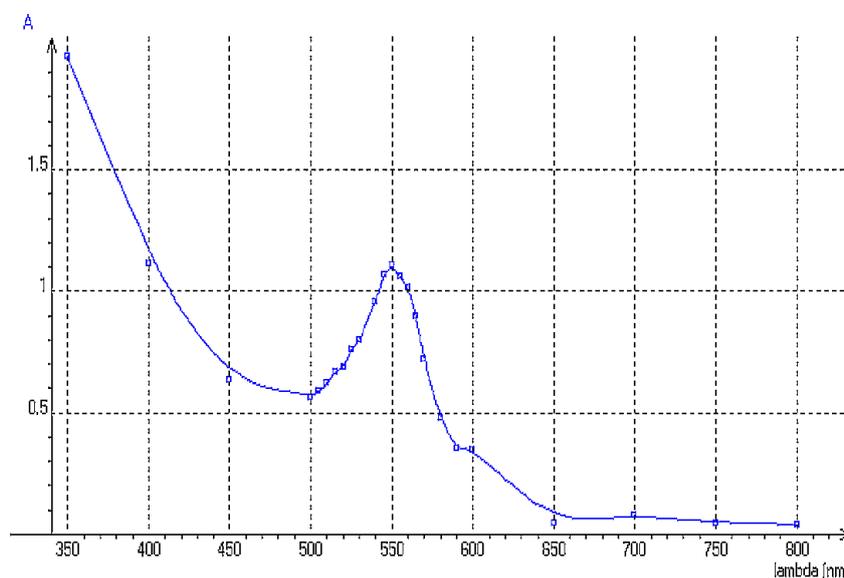


FIGURE 3 – Exemple de spectre d’absorption

4 Loi de Beer-Lambert

L’absorbance A d’une solution homogène, peu concentrée et insensible chimiquement à la lumière, est à la fois proportionnelle à sa concentration C et à la longueur l de la cuve :

Loi de Beer-Lambert

$$A = \varepsilon(\lambda, T)lC$$

où $\varepsilon(\lambda, T)$ est le coefficient d’extinction molaire qui caractérise l’absorbance intrinsèque de l’unique soluté de la solution ^a. Ce coefficient dépend de la longueur d’onde (d’où l’allure du spectre d’absorption fig.3) et de la température.

^a. En général, plusieurs solutés coexistent dans la solution mais dans les conditions usuelles l’absorbance totale résulte d’un seul de ces solutés.

5 Application de la loi de Beer-Lambert

La loi de Beer-Lambert montre une proportionnalité entre concentration et absorbance. La mesure de l’absorbance d’un soluté coloré permet donc de mesurer sa concentration. On met cela à profit entre autres pour :

- doser une espèce coloré ;
- suivre la cinétique d’une réaction dans laquelle un des produits ou des réactifs est coloré ;
- ...

Pour réaliser ces mesures, on utilise un *spectrophotomètre*.

6 Utilisation d’un spectrophotomètre

6.1 Principe du spectrophotomètre

Le principe d’un spectrophotomètre est le suivant (fig4) : un faisceau de lumière blanche traverse l’échantillon de solution étudié et les différentes radiations constituant cette lumière blanche sont différemment absorbées par le milieu. La lumière transmise est ensuite analysée à l’aide d’un réseau qui disperse les différentes longueurs d’onde de la lumière sur différents capteurs.

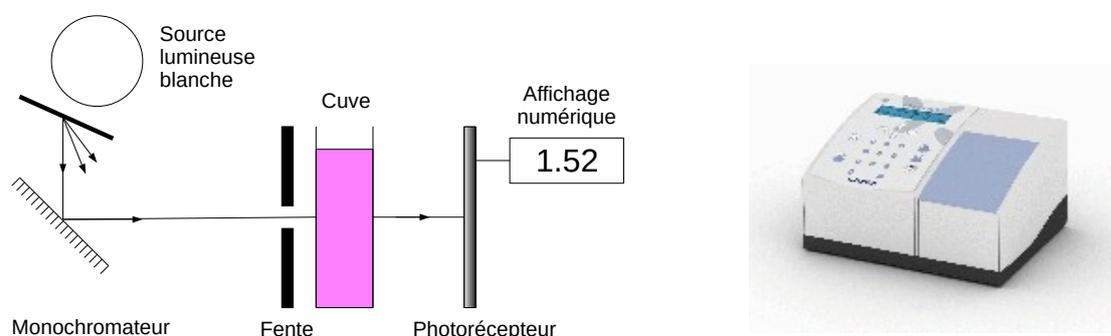


FIGURE 4 – Principe d’un spectrophotomètre

6.2 Réglages

Se référer à la notice. En général, on procède comme suit :

1. **Mise en route de l’appareil** : 10 min avant utilisation afin que le flux lumineux émis par la lampe du spectrophotomètre se stabilise.
2. **Choix de la longueur d’onde** (sauf en mode spectre) : choix de la longueur d’onde analysé.



Choix de la longueur d’onde

Par défaut, on travaille à la longueur d’onde λ_{\max} correspondant à un maximum d’absorbance de l’espèce chimique (fig.5). En effet, au niveau de ce maximum $\frac{dA}{d\lambda}(\lambda_{\max}) = 0$ et donc l’absorbance est peu sensible aux éventuelles fluctuations de la longueur d’onde du faisceau lumineux. Il faut néanmoins s’assurer que le spectrophotomètre ne sature pas à cette longueur d’onde (voir plus loin).

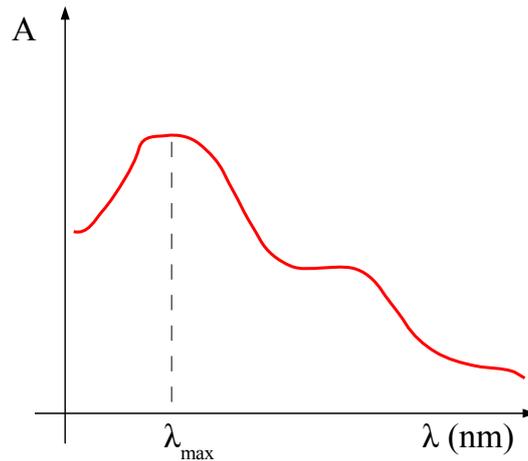


FIGURE 5 – Maximum d’absorption

3. **Faire le blanc** : la cuve et le solvant d’une solution ont une absorbance faible mais non nulle. Pour s’en affranchir, on réalise une acquisition en l’absence du soluté coloré étudié.
4. **Acquisition** : mesure ou série de mesures avec l’échantillon lui-même.

6.3 Précautions d’utilisation

Principales précautions d’utilisation à respecter lorsqu’on manipule un spectrophotomètre :

- Toujours saisir les cuves par leurs faces dépolies : les souillures sur les faces de la cuve traversées par la lumière modifient l’absorbance.
- Vérifier l’absence de saturation du spectrophotomètre : la sensibilité du spectrophotomètre est limitée, il ne peut pas mesurer correctement une absorbance supérieure à une valeur maximale. En général, $A_{\max} = 3$.